

---

# UniMab<sup>®</sup> 50

Protein A 亲和层析介质

## 产品使用说明书

文件编号：NM-W-DF-0302

版本号：A3



# UniMab® 50

## 亲和层析介质

在全球医药市场上，抗体药物已连续多年占据销售榜单前几位，其市场竞争也日趋白热化。降低抗体生产成本是增强市场竞争力的关键因素。而解决抗体的生产瓶颈关键主要在于改进第一步 Protein A 亲和捕获。为了满足抗体生产企业对亲和层析介质机械强度高、反压低、化学稳定性好和耐碱性强，以及在高流速下仍然保持较高动态吸附载量的需求我们开发了 UniMab® 50 Protein A 亲和层析介质。

UniMab® 50 是纳微科技利用自主专利技术生产的高性能、耐碱型重组 Protein A 亲和层析介质，该填料以单分散多孔型聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 微球为基质，利用专有的表面修饰技术并环氧偶联键合 Protein A 制得，适用于单克隆抗体及含有 Fc (功能层析) 片段的重组蛋白类生物大分子的分离纯化。UniMab® 50 机械强度高、反压低、化学稳定性好、耐碱性强，即使在高流速下仍然能保持较高动态吸附载量，能满足从实验室制备到中试及工业化生产的各种需求。

全新一代的 UniMab® 50 Protein A 亲和层析介质作为抗体纯化层析介质，在高流速下能保持较高动态吸附载量，是大规模单克隆抗体及含 Fc 片段重组蛋白亲和纯化的理想选择，有助于降低企业生产成本，相较市场同类产品有如下独特优势：

- (a) 耐受 0.1 到 0.5 M NaOH 清洗，寿命长、生产成本低；
- (b) 单分散均一粒径高强度亲水基质，允许更大操作压力和线性流速；
- (c) 采用耐碱 rProtein A 与独特固定键合技术，更低配基脱落、更强耐碱性；
- (d) 高流速下具有 40 mg/mL (human IgG) 高载量，显著优于同类产品，更高的全程载量和更低的非特异性吸附，可以提高生产效率；
- (e) 最高流速 (~800 cm/h) 和耐受压力 (~0.8 MPa)，显著高于同类产品；
- (f) 不同抗体洗脱条件均一，抗体纯化工艺平台的理想选择。

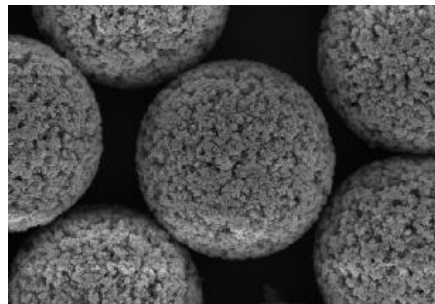


图 1. UniMab® 50 亲和层析介质电镜图。

UniMab® 50 的技术参数如表 1 所示。

表 1. UniMab 50 技术参数。

产品型号	UniMab® 50
分离原理	Protein A 亲和捕获
基质	聚甲基丙烯酸酯 (PMMA)
粒径	50 μm
配基键合方式	环氧键合
动态结合载量*	~ 40 mg·mL <sup>-1</sup> (人 IgG, 5 min 驻留时间)
最大耐压	0.8 MPa
CIP 在位清洗	0.1-0.5 M NaOH
推荐流速	100-800 cm/h
pH 稳定性	2-12
化学稳定性	所有常用缓冲液, 10 mM 盐酸, 0.1 M 柠檬酸 (pH3), 6M 尿素, 6M 盐酸胍, 30% 异丙醇、20% 乙醇。
使用温度	2-40 °C
存储	20% 乙醇或 2% 苯甲醇, 2-8 °C

### UniMab®50 溶剂兼容性测试

25 °C条件下，将填料浸泡在不同浓度和不同种类的试剂中 24 小时后，比较浸泡前后填料对 IgG 的静态结合能力 (≥ 95%以上为符合要求) 来评价填料与溶剂的兼容性，相关兼容试剂种类和浓度结果详见下表：

**表 2. 相关兼容试剂种类和浓度结果**

名称	浓度	试剂名称	浓度
苯甲醇	2 %	异丙醇	30 %
乙酸钠	1 M	柠檬酸钠	1 M
氯化钠	4 M	聚乙二醇	5 %
乙二胺四乙酸二钠盐	100 mM	聚乙二醇 (分子量 1500)	1 %
乙酸	1 M	氢氧化钠	0.1 M
乙醇	100 %	吐温 80	1 %
丙酮	2.5 %	吐温 20	1 %
盐酸胍	6 M	蔗糖	1 M
甘氨酸	1 M	正丙醇	5 %
尿素	6 M	TritonX-100	1 %

## UniMab®50 稳定性测试

### 化学稳定性测试

50 °C环境温度下，将 UniMab® 50 填料浸泡在不同 pH 值 (pH 1~14) 的溶液中，储存达 24 小时后，通过测试其浸泡液中 TOC 值来表征化学稳定性，详见下表：

**表 3. pH 稳定性测试表**

不同 pH 值浸泡溶剂	TOC (PPM)
pH1: 100 mM HCl	197.2
pH2: 10 mM HCl	96.5
pH3: 1 mM HCl	41.7
pH4: 0.1 mM HCl	37.6
pH7: 超纯水	36.3
pH10: 20 mM 硼酸 (NaOH 调)	96.3
pH11: 20 mM 硼酸 (NaOH 调)	125.5

pH12: 10 mM NaOH	154.8
pH13: 100 mM NaOH	979.5
pH14: 1 M NaOH	3069

### 温度稳定性测试

将 UniMab® 50 填料置于 40 °C 加热恒温箱中，分别以 20 %乙醇和 2 %苯甲醇两种浸泡方式储存达 4 周，每周测一次填料的 IgG 的动态载量来表征其稳定性，下表为三批填料在两种不同浸泡液储存下的动态载量变化情况 (动态载量单位: mg/mL Gel (5 min 驻留时间))。

**表 4. 温度稳定性测试表**

I 测试周期	IgG 动态载量 (20%乙醇浸泡储存)		
	NO.1	NO.2	NO.3
初始条件	39.8	39.6	39.4
第一周	40.1	39.6	39.6
第二周	39.9	39.2	39.4
第三周	39.5	39.6	39.0
第四周	39.6	39.0	39.2

## UniMab®50 溶剂残留测试

采用适当溶剂对 UniMab® 50 填料在生产过程中所含残留溶剂进行提取和浓缩，并检测得到其溶剂残留数据如下表所示：

**表 5. 溶剂残留测试表**

溶剂	控制要求
DMF	≤5 ppm
乙醇	NA

## 细胞培养液单克隆抗体(mAb)捕获应用

下面是纳微科技 UniMab®50 亲和介质在捕获细胞培养液中单克隆抗体的性能。实验表明，纳微科技 UniMab®具有卓越的单克隆抗体的亲和捕获能力。

设备	AKTA purifier
柱子	NmTRAP 1mL
样品	单克隆抗体细胞培养液上清, 5 mL
流速	0.2 ml/min
平衡液	PBS
淋洗液	20 mM NaAC, pH 5.5
洗脱液	20mM NaAC, pH 3.5
再生	0.1M NaOH
驻留时间	5 min

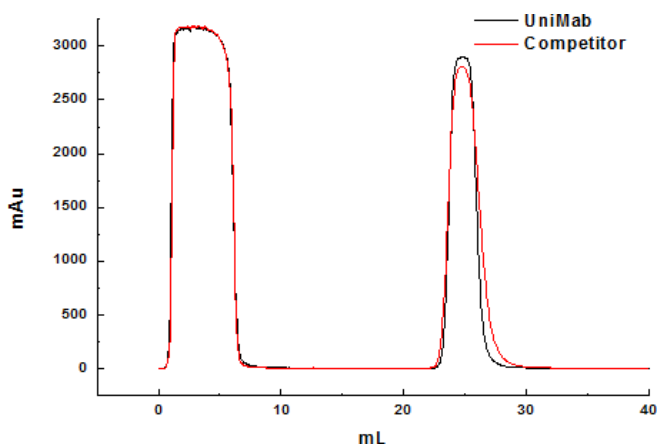


图 2. UniMab® 50 在细胞培养液中单克隆抗体纯化分离性能。

表 6. UniMab® 50 介质捕获 mAb 的回收率情况

驻留时间 (min)	上样体积 (ml)	上样量 (ml)	洗脱 (CVs)	回收率 (%)
0.5	5	33.5	23.2	69.3
2	5	33.5	26.8	79.9
4	5	33.5	31.8	94.9

## 操作指南

### 匀浆浓度测定

UniMab® 50 亲和层析介质保存在 20% 乙醇溶液装瓶出售, 匀浆浓度 (Cs) 大约 65% (v/v)。匀浆液浓度是指层析介质恒定沉降体积与匀浆液的总体积的比值。如需准确测定 Cs, 可以将原容器内介质摇匀, 然后转移 10mL 匀浆到量筒里静置过夜, 读出沉降体积 Vr, 计算匀浆浓度:

$$\text{Eq. 1 } C_s (\%) = 100 \times (V_r/10) = 10 V_r$$

为了获取最佳的装柱效果, 推荐使用 0.5 M NaCl 溶液配制 50~70% 的介质匀浆液。

### 介质前处理

计算所装色谱柱的柱体积 (Vc) :

$$\text{Eq. 2 } V_c = h \times \pi r^2$$

h: 色谱层析柱高度; r: 色谱层析柱半径

计算所需匀浆体积 (Vs): 一般情况下, 层析介质在压力作用下都会被压紧导致体积收缩, 为了获得紧密的柱床, 推荐填料的体积过量一些, 压缩比 (Compression factor, CF) 一般为 1.05-1.1。

$$\text{Eq. 3 } V_s = 100 \times (V_c \times CF)/C_s$$

制备装柱介质匀浆: 将原容器中层析介质摇匀, 量取所需原液体积 Vs 至适当容器中, 静置让介质颗粒自然沉降后, 倾斜倒去上清液; 用 5 倍柱体积以上的装柱溶液, 如 0.5 M NaCl, 清洗介质以去除原保存液, 再用装柱溶液调整匀浆浓度到 50-70% (v/v)。

### 层析柱装填方法: (以 NmXK 16/20 层析空柱为例)

使用装柱溶液快速冲洗柱子末端的接头以除去气泡, 然后关闭柱子出口, 并在柱子底部保留 1-2 cm 装柱液。

用装柱溶液排除上柱头管路中的气泡。

重悬介质, 用玻璃棒紧靠柱内壁引流, 将胶悬液连续倒入层析柱中, 用装柱溶液清洗柱壁并填满柱管, 然后安装上柱头。注意操作过程中避免混入气泡。

打开柱子底部的出口, 开动层析系统泵, 在建议压力范围内用恒流或恒压方法进行压柱。待柱床稳定后, 在胶液界面作标记。

关闭泵和柱子出口，旋松上柱头入口管线，用上柱头推压柱床至标记线下 2-3 mm，然后旋紧上柱头入口管线。

## 柱效评价

装好的层析柱先使用 2 CV 0.5 M NaCl 溶液平衡，再用 2.0 M NaCl 以 100 cm/h 流速进行柱效测试；亦可使用去离子水平衡层析柱并用丙酮溶液做测试。具体测试参数详见表 3：

**表 7. UniMab® 50 层析色谱柱的柱效测试条件。**

样品	5% (v/v)丙酮的水溶液或 2 M NaCl
上样量	1 ~ 5 %柱体积
流动相	去离子水或 0.5 M NaCl
线性流速	50 ~ 200 cm/h
检测	5 %丙酮上样：UV @ 280 nm 2 M NaCl 上样：电导检测仪
合格标准	As: 0.8-1.5; Plates (N/m) : >2500

## 使用方法

冲洗并平衡：

## 故障排除

如果您在使用 UniMab® 50 产品遇到任何问题，请参考下表进行解决或联系我们。

现象	原因分析	建议措施
柱压升高	流速过高	降低流速
	仪器的在线滤器堵塞	去除杂质并清洗，或者替换，在使用前对样品和缓冲液进行过滤
	柱床被压缩	重新填充柱子
	层析柱使用过久	更换层析柱或更换层析介质
	泵和收集器之间的阀门未打开	打开出口

使用之前依次用洗脱液（如 100 mM 甘氨酸, pH 3.0）和平衡液（如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4）冲洗并平衡 UniMab®50HC 柱；

进样：

样品的上样量不超过介质 DBC10%的 0.8 倍；

清洗：

5 CV 平衡液（如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4）；

洗脱：

5 CV 柠檬酸、醋酸或甘氨酸，pH 3-4；

清洗：

5 CV 1 M 醋酸；

再生（Cleaning-in-place, CIP）：

3-5 CV 0.1-0.5 M NaOH 溶液清洗，如有需要可以适当延长浸泡时间；

再平衡：

5 CV 平衡液（如 20 mM PB + 150 mM NaCl, pH 7.4）清洗至基线；

保存：

使用结束后，先用纯水替换层析柱中缓冲盐，然后用 20%乙醇保存。

## 长期储存

介质密封保存在 20%乙醇或 2%苯甲醇中，建议保存温度为 2~8℃。注意防止乙醇挥发以及微生物生长，建议 3 个月更换一次 20%乙醇。

注意：使用过程中，所用样品及流动相必须用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤。

现象	原因分析	建议措施
出现柱上沉淀	疏水性蛋白、脂蛋白或者脂类累积	用非离子型表面活性剂冲洗 (如 0.1% Tergitol 15-S-9 或 Triton X-100 reduced/还原态), 或者 0.5 M NaOH, 或者 1 M 盐酸胍; 然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液 (pH 7-8) 冲洗
	蛋白质变性沉淀	使用 2 倍柱体积的 50 mM NaOH, 或者 50 mM NaOH 和 1.0 M NaCl, 或者 0.1 M H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 或者 6 M 盐酸胍和 10 mM NaOH 冲洗柱子, 至少冲洗 10 分钟以上; 然后使用至少 5 倍柱体积经过消毒过滤的结合缓冲液 (pH 7-8) 冲洗

## 订货信息

产品型号	包装	货号
UniMab® 50	30 mL	17010-050100-2030
	50 mL	17010-050100-2050
	100 mL	17010-050100-2100
	300 mL	17010-050100-2300
	500 mL	17010-050100-2500
	1 L	17010-050100-1001
	5 L	17010-050100-1005
	10 L	17010-050100-1010
	50 L	17010-050100-1050
	100 L	17010-050100-1100

注：可以提供 7.7 mm × 22 mm 、 16 mm × 25 mm 、 7.7 mm × 100 mm 的层析预装柱。更多规格型号或定制需求，请联系我们。

## 苏州纳微科技股份有限公司

全国咨询热线：400-828-1622

邮箱：info@nanomicrotech.com

(本公司产品仅限科研或工业使用)

中文网站：www.nanomicrotech.com

英文网站：en.nanomicrotech.com

2023-苏州纳微科技股份有限公司版权所有

总部地址：苏州工业园区百川街2号 215123

2023年10月第一版

